

杨柳田头菇 *B* 交配型基因信息素受体片段的克隆与分析*

陈卫民^{1,2,3}, 柴红梅^{1,2,3}, 张小雷^{1,2,3}, 李树红^{1,2,3}, 赵永昌^{1,2,3**}

(1 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 云南 昆明 650221; 2 云南省农业生物技术重点实验室, 云南 昆明 650221; 3 农业部西南作物基因资源与种质创制重点实验室, 云南 昆明 650221)

摘要: 利用简并 PCR 及 DNA 步移法, 从杨柳田头菇 *Agrocybe salicicola* YAASM0711 菌株中扩增得到了一个 4 231 bp 的核酸片段。经过比对及序列预测, 所获得序列中含有杨柳田头菇交配型编码基因中的信息素受体部分, 其序列长度为 1 194 bp, 包含 4 个内含子, 5 个外显子的长度分别为 217 bp, 113 bp, 67 bp, 138 bp, 449 bp。拼接后的 ORF 全长 984 bp, 编码 327 个氨基酸残基。该序列与灰盖鬼伞 *Coprinus cinerea*、双色蜡蘑 *Laccaria bicolor* 信息素受体氨基酸序列较为相似, 含有 7 个跨膜区。信息素受体遗传进化分析显示, 其与多个物种信息素受体聚集在一起, 可能与真菌信息素受体的多种起源有关。

关键词: 杨柳田头菇; 信息素受体; 交配型; 简并 PCR; 氨基酸序列

中图分类号: Q 75

文献标识码: A

文章编号: 2095-0845(2012)05-519-06

Cloning and Analysis of Partial *B* Mating Gene Pheromone Receptor in *Agrocybe salicicola* (Strophariaceae)

CHEN Wei-Min^{1,2,3}, CHAI Hong-Mei^{1,2,3}, ZHANG Xiao-Lei^{1,2,3},

LI Shu-Hong^{1,2,3}, ZHAO Yong-Chang^{1,2,3**}

(1 Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650221, China;

2 Yunnan Provincial Key Lab of Agricultural Biotechnology, Kunming 650221, China; 3 Key Lab of Southwestern

Crop Gene Resources and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture, Kunming 650221, China)

Abstract: A 4 231 bp DNA fragment of *B* mating type pheromone receptor from strain YAASM0711 of *Agrocybe salicicola* was obtained by using degenerate PCR and DNA walking techniques. The result of alignment and structure prediction of DNA sequences showed that one 1 194 bp nucleotides gene *ASRcb1* encoding *B* mating pheromone receptor was found, including four introns (72 bp, 49 bp, 48 bp and 41 bp) and five exons (217 bp, 113 bp, 67 bp, 138 bp and 449 bp). The spliced open reading frame (ORF) contains 984 bp nucleotides encoding 327 amino acid residues, and includes seven transmembrane protein regions as in its similar sequences of *Coprinus cinerea* and *Laccaria bicolor* pheromone receptors. The genetic evolution of pheromone receptor showed *ASRcb1* was clustered with more receptors, which suggested multiple ways of evolution occurred in fungi.

Key words: *Agrocybe salicicola*; Pheromone receptor; Mating type; Degenerate PCR; Amino acid sequence

作为四极异宗结合的担子菌, 在有性生殖阶段的初期, 交配系统由位于不同染色体上的 *A*、*B* 双因子控制。其中 *A* 交配因子位点基因编

码类似同源结构域的蛋白质, 控制两个亲本细胞的配对, 并诱导锁状细胞的形成; *B* 位点基因编码信息素及其受体, 控制着锁状细胞的融合和核

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (31101591), 云南省应用基础研究计划 (2011FZ214) 及现代农业产业技术体系建设专项资金 “国家食用菌产业技术体系” (CARS-24)

** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: yaasmushroom@yahoo. com. cn

收稿日期: 2012-03-07, 2012-07-11 接受发表

作者简介: 陈卫民 (1978-) 男, 博士, 副研究员, 主要从事大型真菌遗传学研究。E-mail: chwmkm@yahoo. com. cn

迁移过程 (Swiezynski 和 Day, 1960; Raper, 1966; Riquelme 等, 2005)。

以往有关担子菌交配型基因数量的研究多利用传统遗传统计的方法。根据自交不亲和理论, 对收集不同来源的菌株进行杂交, 发现自然界中裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) 和灰盖鬼伞 [*Coprinopsis cinerea* (*Coprinus cinereus*)] *A* 和 *B* 位点存在极高的多态性, 在灰盖鬼伞中可能存在 160 个 *A* 位点和 79 个 *B* 位点 (Raper 等, 1960; Day, 1963)。我国学者通过对香菇 (*Lentinula edodes*) 自然群体估测认为存在着 121 个不同的 *A* 因子和 151 个不同的 *B* 因子 (林芳灿等, 2003)。担子菌中存在如此之多的交配型基因, 也就为克隆及清楚了解 *A* 和 *B* 位点基因信息造成了很大的障碍。

随着有关高等真菌交配型基因信息的不断扩充, 研究者发现很多真菌信息素前体分子的羧基端存在保守的 CAAX 模体 (Bölker 和 Kahmann, 1993), 另外也发现了信息素受体具有一些保守的氨基酸序列。根据这些特征, 运用兼并 PCR 的方法分别克隆出黑木耳 (*Auricularia auricula*) 及香菇 *B* 位点基因片段 (肖扬等, 2006; Li 等, 2007; 鲍大鹏等, 2008; 李苏等, 2009)。

杨柳田头菇 (*Agrocybe salicicola*) 是目前仅在云南发现的种 (杨祝良等, 1993)。由于其味道鲜美及较高的药用价值, 是一种潜在的可驯化珍稀种类。另外, 已证明杨柳田头菇是独立的生物学种 (周会明等, 2010, 2011; 陈卫民, 2011; Chen 等, 2012), 菌株 YAASM0711 具有容易出菇、部分单孢菌株自交形成无孢/少孢菌株等特点, 是担子菌遗传研究很好的材料。在本研究中, 通过简并引物的方法, 克隆杨柳田头菇信息素受体片段, 分析结构组成, 并用特异性引物对单核菌株进行验证分析, 为杨柳田头菇有性生殖遗传及育种研究提供重要的信息。

1 材料和方法

1.1 实验菌株

杨柳田头菇 YAASM0711 菌株采自云南省香格里拉县建塘镇, 利用栽培的子实体获得 210 个单核菌株, 并通过对峙培养进行 4 个极性 (周会明等, 2010) 的确定。其中的 110 菌株为 *A1B1* 型, 作为本实验的出发菌株。

1.2 菌株培养及 DNA 提取

接种少量菌丝体到 5 mL YPD (0.2% 蛋白胨, 0.2% 酵母粉, 2% 葡萄糖, pH 自然) 液体培养基中, 25 °C 恒温培养两周。取菌丝体置于 2 mL 离心管中, 液氮冷冻条件下研磨至粉末状, 使用 CTAB 法抽提基因组 DNA。

1.3 信息素受体 DNA 序列扩增

以简并引物 Len-F 及 Len-R 扩增信息素受体编码保守区序列 (鲍大鹏等, 2008), 所得片段回收后连接到 pMD18-T 载体 (TakaRa) 进行克隆测序。根据所得的序列, 用染色体步移法, 设计巢式引物, 扩增信息素受体编码基因全长。所用 PCR 反应引物见表 1, 反应体系及条件按照 Genome Walking Kit 试剂盒说明书进行 (TaKaRa)。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 符合预测片段大小的进行载体测序。本实验所用引物的合成及序列测定均在上海生工生物工程有限公司完成。

表 1 简并 PCR、染色体步移及特异验证引物序列

Table 1 Primers for degenerate PCR, DNA walking and special test

引物 Primers	核酸序列 DNA sequences
简并引物 Degenerate primers	
Len-F	5'-CCNTGGCAYHTNCARGCNTGGAA-3'
Len-R	5'-DATRTCRA ANCKRTGNCCYTGNAC-3'
染色体步移引物 (第一轮) Primers for DNA walking (First round)	
1F1	5'-TGTGCGTCTCGCTTTTCGTTATTCATTCTC-3'
1F2	5'-TTTGCATCAGCCGCCCTCTACTA-3'
1F3	5'-GAAGATGTGCGTCTGTGTTTTGTCCC-3'
1R1	5'-GTGAGGTAGTAGAGCGCGCGGTGATG-3'
1R2	5'-AGAAATGAATAACGAAACGAGACGCACAGAT-3'
1R3	5'-GGTTCCTGAGATTGCCACTCCATACGATAG-3'
染色体步移引物 (第二轮) Primers for DNA walking (Second round)	
2F1	5'-ATCACCTCCCCCGCGTTGTTGTTCC-3'
2F1	5'-TGCTGAGAAACGAGAAACAATGG-3'
2F3	5'-CGGATGCCAGCGACAGAGACTATT-3'
2R1	5'-AGCAGCCGCACTAGTTCCAAGCC-3'
2R2	5'-AGAGTCCACGGGAGGTTAGGT-3'
2R3	5'-GGCAGCGTTTCGGTTAGTGTGG-3'

1.4 序列分析

所得的序列用 DNASTar 软件包里的 SeqMan 进行拼接, 并将序列在 NCBI 数据库里进行搜索, 获得序列相近的编码基因。并根据相近基因的序列特征, 以及内含子两端的特征 (GT-AG), 拼接信息素受体全长基因, 并翻译成氨基酸。蛋白质二级结构预测通过 TMHMM 程序在线提交完成, 网址为 <http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0>。

拼接得到的受体基因和 GenBank 上下载获得的信息素受体序列一起用 Clustal X 进行序列比对 (Thompson 等, 1997), 去除两端长短不一及模糊的比对的部分, 使序列长度基本一致。将比对好的序列转换为 nexus 格式文件, 系统树的构建采用 PAUP 4.0b10 软件 (Swofford, 2002) 中的邻接法 (neighbour joining analysis, NJ)。在分析过程中, 将 Alignment 序列中出现的空缺作为信息丢失 (missing)。子矩阵使用 PAM250。采用随机方式添加序列搜索得到进化树, 重复次数为 1 000。分支的支持率 (bootstrap proportions, BP) 使用自举法进行分析 (bootstrap analysis), 1 000 次重复。

2 观察结果

2.1 保守区及上下游序列扩增

以 YAAS0711 菌株分离得到的单核 110 菌株 DNA 为模板, 采用兼并引物进行扩增, 获得一个 530 bp 左右的片段, 分离纯化得到的扩增片段连接载体并转化到感受态细胞, PCR 检测片段大小正确的克隆送交测序。获得的核酸序列在 NCBI 数据库中进行搜索, 与灰盖鬼伞、双色蜡蘑及裂褶菌信息素受体编码基因有较高的相似性。由此推测所获得的核酸为 *A. salicicola* 信息素

受体编码基因 (*ASRcb1*) 片段。

根据得到的序列, 设计特异性引物 (表 1), 并按照 Genome Walking Kit 试剂盒说明书, 特异性引物和试剂盒随带引物配对, 先后经过两轮染色体步移对上下游序列进行扩增。经拼接后最终共获得 4 231 bp 的核酸序列 (GenBank JQ765701)。

2.2 信息素受体序列分析

根据所获得的序列, 并参照数据库里已知相似基因的序列信息, 以及内含子的结构特征 (GT-AG), 信息素受体编码全长基因 *ASRcb1* 共 1 194 bp, 包含 4 个内含子, 长度分别为 72 bp, 49 bp, 48 bp, 41 bp, 5 个外显子的长度分别为 217 bp, 113 bp, 67 bp, 138 bp, 449 bp。拼接后的 ORF 全长 984 bp, 编码 327 个氨基酸残基 (图 1)。经过比对, *ASRcb1* 与灰盖鬼伞、双色蜡蘑信息素受体氨基酸序列较为相似, 相同率及相似率均超过 70% 及 80%。其氨基酸序列保守区与相似基因序列相比有明显的保守区, 高度相似的有 WCDISS, 但与已报道的保守片段 PWHQAW 不同 (O'Shea 等, 1998), *ASRcb1* 中的 HQ 中间插入了一个异亮氨酸 (I)。

```

ATGCCCTCTCAGCATCTATGTATCCTCTCTTCCCGACCTTCGCTTTCCTCGGGTTCGTCGTTAGCTTGATCCCGCTCCCTGG
M P S H D P M Y P L F P T F A F L G F V V S L I P L P W
CATATCCAGGCATGGAATTCGGGTACCTGTGCTTTCATGCTATGGACCGCCATATCCTGCCTTACCGGATTCGTGAACCTATAT
H I Q A W N S G T C A F M L W T A I S C L T G F V N S I
GTATGGAGTGGAATCTCAGGAACCCAGCCCCGTCTGGTGCATATCTGTGCGTCTCGCTTTCGTTATTCATTCTCTTCCA
V W S G N L R N P A P V W C D I
AGTTCCAACCGTCTAATGTGTGACGACGCGTTTTCCTCCAAAATCATCATTGGCGTCAGTGTGGGCATTCAGCTGCG
S S K I I I G V S V G I P A A
ATTCTTTCATCAGCGCGCCTCTACTACCTCACCTCCGGAACCTACTGTCTCAATTACTACGAAGATGTGCGTCTGTGTT
I L C I S R R L Y Y L T S G T T V S I T H E D
TTTGTCCTTTCATCACCACTGAACCTCTCGTCAGAAACGCCGATGGTCAATTAACGACCTGTGATTGCGCTCGGAATTCCT
K R R M V I I D L C I A V G I P
GTTATTATATGACTCTTCGTGAGTCTCCATTCCTCCAGGCAAGCCTCCGCTAAGTGAATGCAGACTACATCGTCCAAGG
V I I M T L H Y I V Q G
ACACCGATTGACATCTGGAAGACATCGGCTGCTATCTGTCTGTTTATAATACGCTTCTGCTATCTCTGTATCTCATGTGG
H R F D I L E D I G C Y P V V Y N T L P A Y F L Y L M W
CCAGTTGTCTCGGCGCATCTCTTTGTCTCTCTGTCGCTAGCTTCCGTTTCTTCTCTGATTGCATTTAACAAGTTTTG
P V V L G A I S F V F S V F
TAGCCCTCACCTCCGCTCTTCTGGATCCGCGTCTCCAATTCAACCAGCTCATTACCTCCAACCCCTCAATGAGCGTCAGC
V A L T L R S F W I R R L Q F N Q L I T S N P S M S V S
CGATATCTCCGCTTGTCTCTCTCGCCATCATCGACATGATGTGACCGTCCCTCTCGGCGTCTACACAATCTGGATAGGCAA
R Y L R L V L L A I I D M M C T V P L G V Y T I W I G N
CCAAGGCGTTGGTCTTGCCCATGGATCTCTGGGAGGACCCCACTTCAATTTCTCCGCGTCCGCTCGTACCTGCTCTC
Q G V G L A P W I S W E D T H F N F S R V A L V P A L
ATCTGGCGCAGTGACGTTCTGTTACGACCTCTGTGAGCTGACAAAGGTGGCTGCCAGTCTTTGCGCGTCTTGTCTTGTG
I W R S D R S F T T S V E L T R W L P V L C A F L F F A
CACTGTTGGGTCTCGGAGGCGCAGAGGTGCTACAAGATCGCGTCTGCGCGCTCATGGGGTGTGGTGTGAAC
L F G F A S E A Q R C Y K I A F W R V M G V F G V K
CTGCTCCCGCCACGCTTCAAGGCGAGGCTGA
P A P A T P S K A G *

```

图 1 *ASRcb1* 基因的核酸及氨基酸序列 (阴影部分为内含子)

Fig. 1 Nucleic and amino acid sequence of *ASRcb1* (shaded sequences were introns)

作为信号接受分子,信息素受体嵌在膜上。使用 TMHMM 在线提交软件,预测出 *ASRcb1* 共有 7 个跨膜区(表 2),这一结果与已知的信息素受体跨膜区个数相同。

2.3 信息素受体遗传进化分析

经过序列比对和进化树的构建,所分析序列大致分为 5 个类群,其中 *ASRcb1* (*Agrocybe salicicola* YAASM0711) 位于类群 I 中,与双色蜡蘑、灰盖鬼伞等物种信息素受体聚在一起(图 2)。另

外在类群 I 还有 *Coprinellus disseminatus*、*Postia placenta*、*Serpula lacrymans*、*Flammulina velutipes* 和香菇等物种,聚集了大部分的供试物种。类群 I 进一步和包含有裂褶菌(*Schizophyllum commune*)的类群 II 聚在一起,并逐级和类群 III、IV、V 聚集。在其它的几个类群中(除 V 类群)也都有多个物种信息素受体聚集在一起。在形态及遗传进化分类上与杨柳田头菇较为相近的光滑环伞牛(*Pholiota nameko*) 则位于离其较远的类群 III 中。

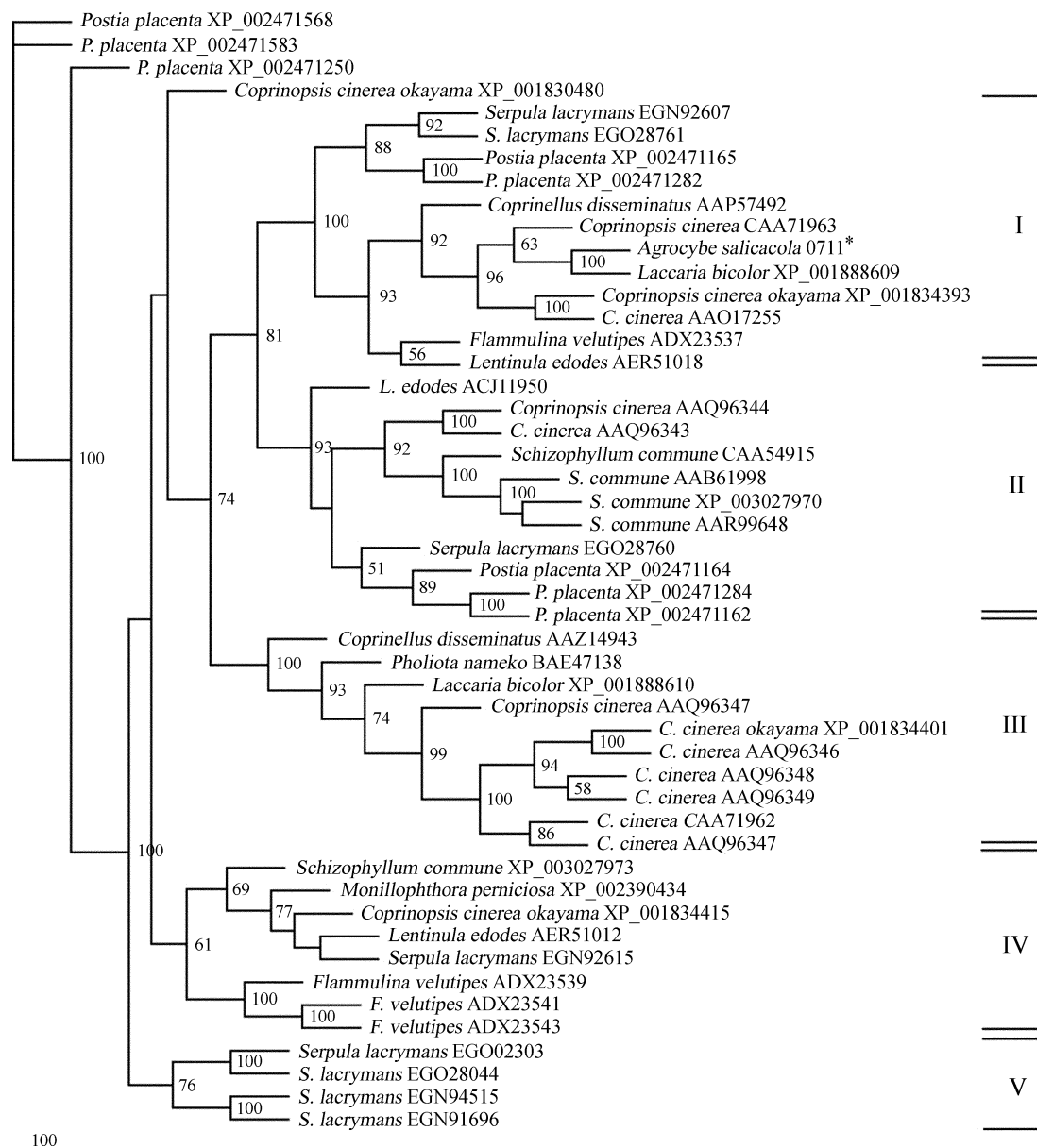


图 2 基于信息素受体序列分析构建的邻接树(分支处数字代表 1 000 次重复的支持率,大于 50% 者在图中显示)

Fig. 2 Neighbour-joining tree based on analysis of pheromone receptor sequences

(The numbers at the nodes represent bootstrap supported from 1 000 replicates, and the values above 50% were shown)

表 2 *ASRcb1* 基因氨基酸跨膜区Table 2 The transmembrane regions of *ASRcb1* amino acid sequence

编号 No.	N 末端 N-terminal	跨膜区域 Transmembrane region	C 末端 C-terminal	长度 Length
1	10	LFPTFAFLGFVVSLLPLPWHIQA	32	23
2	39	AFMLWTAISCLTGFVNSIVWSGN	61	23
3	76	IIIGVSVGIPAAILCISR	93	18
4	114	MVIHDLCAVGPVHIMTLHYIV	136	23
5	163	YLMWPVVLGAISFVFSVFVALLTL	185	23
6	213	LVLIAHDMMCTVPLGVYTIWIG	235	23
7	277	LTRWLPVLCAFLFFALFGFASEA	299	23

从物种信息素在类群中分布情况来看, 存在具有多个供分析信息素受体序列的物种, 如香菇分布在类群 I、II 和 IV 中, 灰盖鬼伞信息素受体在除类群 V 外的其它类群中均有分布。

3 讨论

3.1 *ASRcb1* 基因结构组成

真菌交配型基因是控制有性生殖过程最重要的基因之一, 控制着整个循环的进行, 因而其结构成为真菌有性生殖研究最需要了解清楚的内容。本研究通过简并引物扩增及染色体步移的方法, 获得了杨柳田头菇 YAASM0711 菌株的 *B1* 信息素受体全长序列 *ASRcb1*, 并进行了序列分析及预测, 保守区域组成信息表明信息素受体与已知的序列有较高的相似性, 这是田头菇属 (*Agrocybe*) 有性生殖基因研究的首次报道。由此可见, 简并引物扩增结合染色体步移法成为真菌未知交配型基因分析的有效途径。

在已知的 *B* 交配型基因中, 信息素前体编码基因与受体基因多为串联, 因而在获得信息素受体片段的基础上, 可以进一步克隆信息素基因 (Koltin, 1978; James 等, 2004)。在裂褶菌中, *B α* 位点含有 3 个信息素编码基因和 1 个受体基因, *B β* 位点有至少 3 个信息素基因和 1 个受体基因 (Vaillancourt 等, 1997); 灰盖鬼伞 B6 菌株 *B* 位点有 3 个单元, 每个由 3 个基因组成, 负责编码 2 个信息素和 1 个受体基因 (O'Shea 等, 1998)。在杨柳田头菇中, *ASRcb1* 上游约 1 800 bp 及下游约 800 bp 范围内没有预测到信息素前体, 而香菇的信息素受体与信息素前体编码基因仅有 690 bp 左右距离 (李苏等, 2009), 灰盖鬼伞 *B* 位点基因中, 信息素受体与信息素前体间的距离也都小于

500 bp (O'Shea 等, 1998), 可见在真菌 *B* 位点中串联基因之间的片段长度相差较大, 并且信息素前体编码基因较短, 因而在以后的基因克隆过程中需要在上下游区域较大范围内进行序列分析。

3.2 信息素受体蛋白组成特征

信息素受体的氨基酸组成最终决定了其功能, 其与信息素的结合会激发细胞内有关有性生殖的信号传导过程, 进而控制着交配行为 (Kurjan, 1993)。然而, 目前有关信息素受体氨基酸组成与其功能相关的研究还未见报道, 这与其组成的多样化程度较高相关, 可能阻碍了其规律性探索, 因而需要更多的信息素受体相关信息的扩充。

与其它已知的信息素受体一样 (Wendland 等, 1995; Vaillancourt 等, 1997; Kothe, 2001; 李苏等, 2009), *ASRcb1* 包含 7 个跨膜区域。同样, 氨基酸组成具有多个保守区, 如 WCDISS 片段为高度保守, 还有 PWHQAW 片段, *ASRcb1* 仅比其它担子菌中的受体多了 1 个氨基酸。经过跨膜区预测, 前 1 个片段位于膜外, 后 1 个片段位于跨膜区, 在香菇中, 这两个保守区所在跨膜区的位置与 *ASRcb1* 较为相似 (李苏等, 2009), 这些特征是否与受体与信息素的识别及结合有关, 还有待深入的研究。

3.3 信息素受体蛋白的遗传进化

由于信息素及受体的组成比较复杂, 数量庞大, 相关的遗传进化研究较少, 只有在灰盖鬼伞的几个菌株相关信息素受体进行过遗传进化分析 (Riquelme 等, 2005)。在本研究中, 结合已有的信息素受体信息资源, 探索杨柳田头菇和担子菌信息素受体的遗传进化特征。如进化树所示, 杨柳田头菇受体和大部分的供试菌株受体聚在一起, 而且具有多个供试序列的菌株受体分布在多个类

群中,推测是多个受体序列在进化过程中,经过自然选择保留下来,类群内序列保守性较高,而类群之间相差较大,并且重组等方式造成类群多样性很高的分布状态,但一些保守区仍然很好的遗传下来。在灰盖鬼伞中,作者认为该物种信息素受体有两个起源,并在以后的进化中经突变、重组等方式形成了较为复杂的多样性(Riquelme等,2005)。这些研究为以后的物种鉴定、遗传分析,乃至以后的育种研究都提供了可借鉴的依据。

[参 考 文 献]

- Bao DP (鲍大鹏), Zhang MY (张美彦), Li S (李苏) *et al.*, 2008. Cloning of a putative pheromone receptor gene fragment from *Lentinula edodes* [J]. *Acta Edulis Fungi* (食用菌学报), **15** (2): 1—3
- Bölker M, Kahmann R, 1993. Sexual pheromones and mating responses in fungi [J]. *The Plant Cell*, **5** (10): 1461—1469
- Chen WM (陈卫民), Zhang XL (张小雷), Chai HM (柴红梅) *et al.*, 2011. The fast identification of the isolation of two confusing species *A. aegerita* and *A. salicicola* based on the mitochondrial sequences [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), **27** (31): 152—155
- Chen WM, Chai HM, Zhou HM *et al.*, 2012. Phylogenetic analysis of the *Agrocybe aegerita* multispecies complex in Southwest China inferred from ITS and mtSSU rDNA sequences and mating tests [J]. *Annals of Microbiology*, DOI: 10.1007/s13213-012-0437-4
- Day PR, 1963. The structure of the A mating type factor in *Coprinus lagopus*; wild alleles [J]. *Genetical Research*, **4** (2): 323—325
- James TY, Liou SR, Vilgalys R, 2004. The genetic structure and diversity of the A and B mating-type genes from the tropical oyster mushroom, *Pleurotus djamor* [J]. *Fungal Genetics and Biology*, **41** (8): 813—825
- Koltin Y, 1978. Genetic structure of incompatibility factors—the ABC of sex [A]. In: Schwalb MN, Miles PG (eds.), *Genetics and Morphogenesis in the Basidiomycetes* [M]. New York: Academic Press, 31—54
- Kothe E, 2001. Mating-type genes for basidiomycete strain improvement in mushroom farming [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **56** (5-6): 602—612
- Kurjan J, 1993. The pheromone response pathway in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Annual Review of Genetics*, **27** (1): 147—179
- Li AZ, Xu XF, Lin FX *et al.*, 2007. Cloning and identification of partial DNA fragment for the B mating-type factor in *Lentinula edodes* using degenerate PCR [J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **23** (3): 411—415
- Li S (李苏), Bao DP (鲍大鹏), Chen MJ (陈明杰) *et al.*, 2009. Molecular genetic structure of the B mating-type locus of *Lentinula edodes* I. Cloning and sequence analysis of pheromone receptor gene and pheromone precursor gene [J]. *Mycosystema* (菌物学报), **28** (3): 422—427
- Lin FC (林芳灿), Wang ZW (汪中文), SUN Y (孙勇) *et al.*, 2003. Analysis of the mating type factors in natural population of *Lentinula edodes* in China [J]. *Mycosystema* (菌物系统), **22** (2): 235—240
- O'Shea SF, Chaure PT, Halsall JR *et al.*, 1998. A large pheromone and receptor gene complex determines multiple B mating type specificities in *Coprinus cinereus* [J]. *Genetics*, **148** (3): 1081—1090
- Raper JR, 1966. *Genetics of Sexuality in Higher Fungi* [M]. New York: Ronald Press
- Raper JR, Baxter MG, Ellingboe AH, 1960. The genetic structure of the incompatibility factors in *Schizophyllum commune*; the A factor [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **46** (6): 833—842
- Riquelme M, Challen MP, Casselton LA *et al.*, 2005. The origin of multiple B mating specificities in *Coprinus cinereus* [J]. *Genetics*, **170** (3): 1105—1119
- Swiezynski KM, Day PR, 1960. Heterokaryon formation in *Coprinus lagopus* [J]. *Genetic Research*, **1** (1): 114—128
- Swofford DL, 2002. PAUP* 4.0b10; *Phylogenetic Analysis Using Parsimony* (* And Other Methods). Version 4 [CP]. Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F *et al.*, 1997. The Clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Research*, **25** (24): 4876—4882
- Vaillancourt LJM, Raudaskoski M, Specht CA *et al.*, 1997. Multiple genes encoding pheromones and a pheromone receptor define the Bb1 mating type specificity in *Schizophyllum commune* [J]. *Genetics*, **146** (2): 141—151
- Wendland J, Vaillancourt LJ, Hegner B *et al.*, 1995. The mating-type locus B alpha 1 of *Schizophyllum commune* contains a pheromone receptor gene and putative pheromone genes [J]. *The EMBO Journal*, **14** (21): 5271—5278
- Xiao Y (肖扬), Tang LH (唐利华), Bian YB (边银丙), 2006. Preliminary application of degenerate primers in study on the mating factor of *Auricularia auricula* [J]. *Mycosystema* (菌物学报), **25** (4): 682—685
- Yang ZL (杨祝良), Zang M (臧穆), Liu XX (刘学系), 1993. *Agrocybe salicicola*, a new species of sect. *Aporus* from Yunnan [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **15** (1): 18—20
- Zhou HM (周会明), Zhao YC (赵永昌), Chen WM (陈卫民) *et al.*, 2010. The relationship between mating factors with mycelial growth rate of *Agrocybe salicicola* (Bolbitiaceae) [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **32** (4): 315—322
- Zhou HM (周会明), Zhang XL (张小雷), Ma MF (马美芳) *et al.*, 2011. Study on the hybridization for different isolates of genus *Agrocybe* [J]. *Biotechnology* (生物技术), **21** (1): 69—73